

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Шебзухов Тимур Александрович

Должность: Директор Пятигорского института (филиал) Северо-Кавказского
федерального университета

Дата подписания: 19.09.2023 10:46:48

Уникальный программный ключ:

d74ce93cd40e39275c3ba2f58486412a1c8ef96f

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Пятигорский институт (филиал) СКФУ

Методические указания

по выполнению лабораторных работ

по дисциплине «БИОХИМИЯ»

для студентов направления подготовки /специальности

19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания

(ЭЛЕКТРОННЫЙ ДОКУМЕНТ)

Пятигорск 2021

Методические указания по выполнению лабораторных работ предназначены для студентов 3 курса очной формы обучения направления 19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания, направленность (профиль): Технология и организация ресторанного дела.

Протокол № от

Заведующий кафедрой технологии
продуктов питания и товароведения

Е.Н.Холодова

Содержание

Введение

Общие правила работы в лаборатории

Правила пользования реактивами и приборами

Техника безопасности при работе в химической лаборатории

Требования к выполнению лабораторных работ

Лабораторная работа №1. Цветные реакции на белки

Лабораторная работа №2. Реакции осаждения белка

Лабораторная работа №3. Растворимость белков

Лабораторная работа №4. Высаливание белков

Лабораторная работа №5. Определение изоэлектрической точки белков

Лабораторная работа №6. Выделение казеина из молока

Лабораторная работа №7. Действие амилазы на крахмал

Лабораторная работа №8. Определение оптимальной температуры действия ферментов

Лабораторная работа №9. Изучение химических свойств жиров

Перечень рекомендуемой литературы

ВВЕДЕНИЕ

Методические указания составлены в соответствии с рабочей программой по дисциплине «Биохимия» подготовки бакалавра направления подготовки 19.03.04 Технология и организация общественного питания; профиль подготовки: Технология и организация ресторанного дела

Выполнению лабораторных занятий должна предшествовать самостоятельная работа студентов с рекомендованной литературой, данными методическими указаниями и конспектами лекций. Перед началом занятий преподаватель проверяет теоретическую подготовку студента по теме лабораторного занятия и разъясняет задания по предстоящей работе.

В процессе выполнения работы необходимо выполнить требуемые по заданию исследования и составить отчет согласно заданию, сделать выводы об исследуемых материалах

По окончании работы преподаватель проверяет усвоение студентом сущности методов, обработки и интерпретации полученных результатов, проверяет сделанные записи в рабочей тетради, комплексно оценивает практическую работу и знания студента по теме.

Отчет выполняется в отдельной тетради для лабораторных работ, которую студенты сохраняют и предоставляют при сдаче экзамена. В отчете указываются дата, номер лабораторной работы, цель работы, ход работы и ее результаты. В отчет также вносят все рисунки, таблицы, схемы в соответствии с принятыми в научно-технической документации обозначениями. Без оформления результатов лабораторной работы и сдачи отчета студент не допускается к выполнению следующей работы.

При выполнении лабораторных занятий студент обязан бережно относиться к учебным пособиям, лабораторному оборудованию и приборам. В случае их порчи студент обязан возместить стоимость или ремонт приборов. Перед выполнением работы студент должен внимательно ознакомиться с общими правилами работы лаборатории, правилами пользования реактивами и приборами и с техника безопасности при работе в химической лаборатории

ОБЩИЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ В ЛАБОРАТОРИИ

1. Запрещается приходить в лабораторию в верхней одежде. Сумки, портфели необходимо аккуратно сложить в специально отведённое место. Работать только в халатах.
2. За каждым студентом в лаборатории закреплено своё рабочее место, которое он обязан содержать в чистоте и порядке.
3. Работу проводить индивидуально, соблюдать тишину.
4. Предварительно повторить теоретический материал соответствующей главы и ознакомиться с содержанием лабораторной работы.
5. Проверить наличие необходимого оборудования и реактивов для данной работы или опыта.

6. Уяснить и точно соблюдать порядок и последовательность операций, указанных в руководстве.
7. Необходимо знать и строго соблюдать правила техники безопасности.
8. Необходимо экономить реактивы, беречь приборы и посуду, а также соблюдать порядок и дисциплину. Посторонние опыты выполнять не разрешается.
9. Внимательно следить за ходом опыта. В случае неудачной постановки опыта и прежде, чем его повторить, следует установить причину; в сомнительных случаях обращаться к преподавателю.
10. Все записи наблюдений делать сразу же после окончания опыта в лабораторном журнале.
11. После окончания работы вымыть использованную посуду и привести в порядок рабочее место.

ПРАВИЛА ПОЛЬЗОВАНИЯ РЕАКТИВАМИ И ПРИБОРАМИ

1. Реактивы, необходимые для данной работы, выставляют на полки лабораторных столов. Редкие реактивы, концентрированные кислоты и щёлочи, пахучие вещества (например, сероводород, бромная вода и др.) хранят в вытяжном шкафу.
2. Сухие реактивы следует брать чистым шпателем или специальной ложечкой.
3. Для выполнения опыта необходимо минимальное количество реактива: сухого вещества в количестве, закрывающем дно пробирки, а раствора – не более 1-2 мл. Избыток реактива не вносить или не выливать обратно в сосуд, из которого он был взят.
4. Слянки и банки, после взятия из них реактива, закрыть пробкой или крышкой и поставить на место. Закрывая слянки, не путать пробки, т.к. это ведёт к загрязнению реактивов. Слянки с растворами при взятии из них реактивов держать так, чтобы этикетка всегда находилась сверху, и раствор не попадал на неё. При взятии раствора из слянки, пробку надо держать в руке или класть на стол так, чтобы входящая в горло слянки часть пробки не касалась стола.
5. После выполнения и описания опыта отработанные дорогие и редкие реактивы (соединения ртути, серебра, мышьяка, фосфор и др.), концентрированные кислоты слить в специальные слянки, находящиеся в вытяжном шкафу. Остальные использованные реактивы вылить в раковину.
6. Запрещается передавать реактивы из лаборатории студентам и посторонним лицам без ведома преподавателей, ведущих занятие.
7. Основную химическую посуду: пробирки (в штативе), колбы, химические стаканы после работы тщательно вымыть; весы с разновесом, приборы, исполь-

зубные для проведения отдельных лабораторных работ, приводят в порядок и сдают лаборанту.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

1. Аккуратно обращаться со стеклянной химической посудой. Остатки разбитой посуды убирать с помощью совка и щётки.
2. Все работы, связанные с выделением ядовитых, летучих и неприятнопахнущих веществ, проводить в вытяжном шкафу.
3. При определении запаха веществ отверстие сосуда держать на расстоянии 25-30 см от лица, направляя к себе струю газа поступательными движениями ладони от отверстия к лицу.
4. При налинии реактивов не наклоняться над сосудом во избежание попадания брызг или частиц на лицо или одежду. При разбавлении концентрированных кислот вливать кислоту в воду, но не наоборот.
5. При нагревании пробирки не держать её отверстием к себе или в сторону соседа. Не наклоняться над нагреваемой жидкостью во избежание попадания её на лицо, руки или одежду.
6. Горячие предметы можно ставить только на асбестовый картон, асбестированную сетку или другую специальную подставку.
7. Запрещается хранить и пользоваться легковоспламеняющимися жидкостями (бензин, спирт, ацетон и др.) вблизи огня.

В случае воспламенения горючих жидкостей быстро погасить горелку, выключить электроприборы, отставить сосуды с огнеопасными веществами и тушить: засыпать песком или использовать огнетушитель.

8. При ожоге раскалённым предметом обожжённое место смочить крепким раствором или протереть кристалликами перманганата калия до побурения кожи или же приложить ватку, смоченную жидкостью от ожогов из аптечки.
9. При сильных ожогах и отравлениях немедленно обратиться к врачу.
10. Если разбит ртутный термометр или пролита ртуть, о случившемся необходимо сообщить преподавателю и принять меры к ликвидации ртути.
11. Осторожно пользоваться газовыми горелками. При появлении запаха газа немедленно закрыть все газовые краны и прекратить все работы с огнём.
12. Нельзя пользоваться электроприборами без соответствующего инструктажа. При включении их в сеть нельзя держаться за металлические предметы (трубы, краны и т.п.). Запрещается включать и выключать электроприборы мокрыми руками, а также пользоваться неисправными или имеющими оголённые провода приборами.

13. Запрещается принимать пищу в химической лаборатории и пить воду из лабораторной посуды. Категорически запрещается пробовать реактивы на вкус.
14. При попадании на лицо или руки брызг концентрированных кислот после смывания водой промыть слабым раствором соды. Щёлочь следует смывать до тех пор, пока участок кожи, на который она попала, не перестанет быть скользким; затем промыть слабым раствором уксусной кислоты и наложить повязку из ваты, смоченной 3%-ным раствором перманганата калия (из аптечки в лаборантской кафедры).
15. При отравлении галогенами, сероводородом, оксидами азота пострадавшего вынести на воздух. Если самочувствие не улучшится, обратиться к врачу.
16. По окончании работы выключить из сети все электроприборы, перекрыть подачу газа и воды в лабораторию и убрать рабочее место.
17. Обо всех несчастных случаях немедленно сообщать преподавателю или лаборанту.

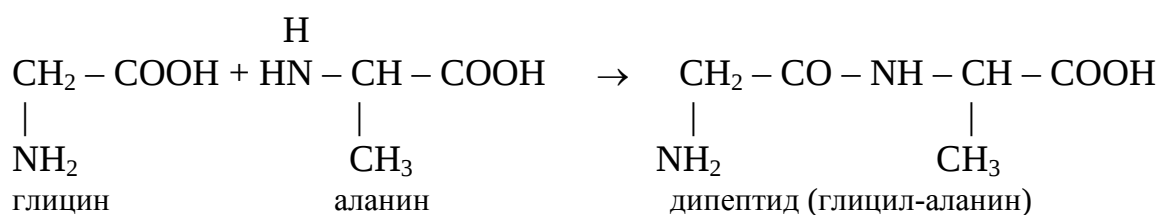
ТРЕБОВАНИЯ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

1. Выполнение лабораторных работ сопровождаются записями в лабораторном журнале. На титульном листе лабораторного журнала должны быть представлены: название университета, фамилия и инициалы учащегося, номер курса и группы, учебный год.
2. Отчет о выполненной лабораторной работе должен содержать следующие сведения:
 - номер работы и её название;
 - дату выполнения работы;
 - цель работы;
 - номер и название опыта;
 - краткое описание хода работы с указанием условий проведения опыта;
 - рисунки и схемы используемых приборов;
 - наблюдения;
 - уравнения протекающих реакций;
 - расчёты, таблицы, графики;
 - выводы.
3. Лабораторный журнал нужно вести чисто и аккуратно, записи должны быть лаконичными.
4. Отчёт о проведённой работе проверяет и подписывает преподаватель.

5. К сдаче зачёта по лабораторному практикуму допускаются студенты, выполнившие и подписавшие у преподавателя все домашние и лабораторные работы, сдавшие коллоквиумы, активно участвовавшие в работе семинаров.
6. Студенты, получившие зачёт по лабораторному практикуму, допускаются к сдаче экзамена по курсу биохимия.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА БЕЛКА

Белки представляют собой высокомолекулярные полимерные органические соединения, построенные из аминокислот. Аминокислоты в молекуле белка соединены между собой пептидными связями, образуя полипептидные цепи. Пептидная связь возникает между карбоксильной группой одной аминокислоты и аминогруппой другой, что сопровождается выделением молекулы воды. Образование этой связи между двумя аминокислотами (например, между глицином и аланином) можно представить следующим образом:



При полном гидролитическом расщеплении белковой молекулы происходит разрыв пептидных связей и образование смеси L-аминокислот.

Огромное разнообразие белков в природе определяется их аминокислотным составом и порядком расположения аминокислот в полипептидной цепи.

В белках различают несколько уровней структурной организации, а именно их первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры.

Первичная структура белка, определяется числом и последовательностью аминокислотных остатков, соединенных между собой при помощи пептидных связей.

Вторичная структура возникает за счет образования водородных связей между группами N–H и O=C данной полипептидной цепи, что приводит к упорядоченному расположению гибкой полипептидной цепи в виде спиральной или складчатой структуры.

Третичная структура возникает в результате взаимодействия между боковыми цепями аминокислотных остатков полипептидных цепей. К таким взаимодействиям относятся водородные связи, ван-дер-ваальсовы силы, дисульфидные (–S–S–) связи, ионные, появляющиеся между положительно заряженными радикальными аминогруппами диаминомонокарбоновых кислот – (–NH₃⁺) и отрицательно заряженными радикальными карбоксильными группами дикарбоновых аминокислот (–COO[–]) и т.д. в результате таких взаимодействий полипептидная цепь сворачивается очень сложным, но вместе с тем строго определенным образом, приобретая характерную пространственную конфигурацию. И, наконец, межмолекулярные взаимодействия между отдельными полипептидными цепями, обладающими вторичной и третичной структурой, могут

приводить к образованию агрегатов, т.е. к возникновению четвертичной структуры белка.

Структура белковой молекулы очень лабильна и легко разрушается под влиянием различных физических и химических воздействий, в результате чего изменяются ее биологические и физико-химические свойства.

Лабораторная работа №1.

Тема: Цветные реакции на белки.

Цель работы: Познакомится со структурой белка, его химической природы, а также с методами обнаружения белков.

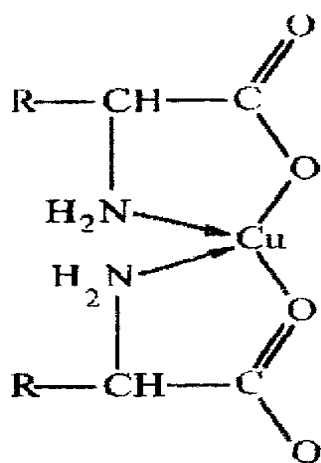
Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

Присутствие белка в биологических объектах или растворах можно обнаружить с помощью цветных реакций, которые обусловлены наличием аминокислот в белке, их специфическими группами или пептидными связями.

Существуют универсальные цветные реакции, которые дают все белки (биуретова, нингидриновая). Кроме того, имеются специфические реакции, которая обусловлены наличием только определенным аминокислот в молекуле белка (ксантопротеиновая, Миллона, Фоля и др.); ряд аминокислот можно открыть указанными реактивами и в чистых растворах аминокислот. На основании некоторых цветных реакций разработаны методы количественного определения белков и аминокислот, которые широко используются в биохимических лабораториях. Цветные реакции проводят с растворами яичного белка и желатина, имеющих различный аминокислотный состав.

А. БИУРЕТОВАЯ РЕАКЦИЯ

В щелочной среде в присутствии солей меди растворы белка приобретают фиолетовый цвет с красным или синим оттенком, зависящим от количества пептидных связей в молекуле белка. Такую реакцию дают все белки, а также



продукты их неполного гидролиза – пептоны и полипептиды, содержащие не менее двух пептидных связей. Биуретовая реакция обусловлена наличием в белке пептидных связей, которые в щелочной среде образуют сернокислой медью окрашены комплексы.

Биуретовую реакцию также дают ряд аминокислот, по-видимому, за счет образования комплекса вида:

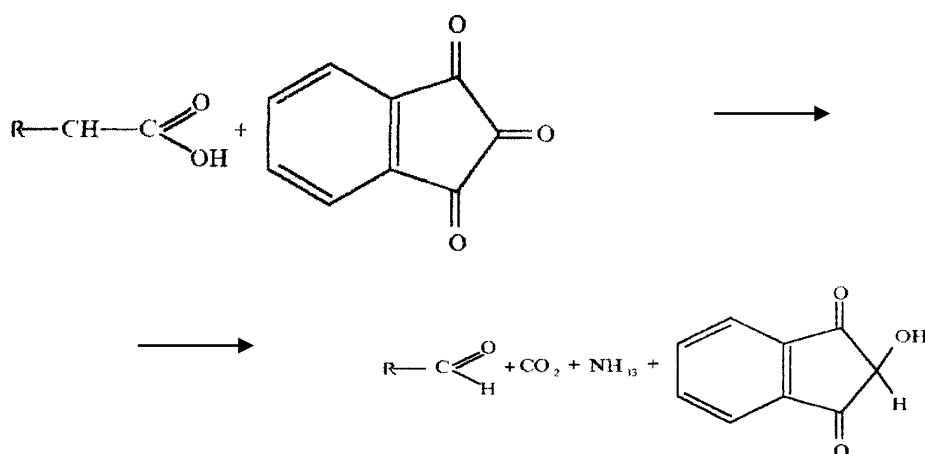
Ход работы. В одну пробирку наливают пять капель 1% раствора яичного белка, в другую – 5 капель 1% раствора желатины. В каждую пробирку добавляют по 10 капель 10%

раствора едкого натра и по 1 капле 1% раствора сульфата меди. В той и другой пробирке появляется красно-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание.

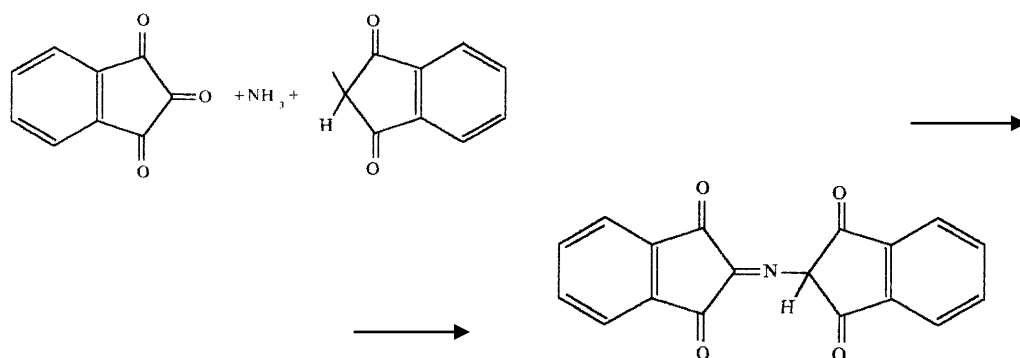
Б. НИНГИДРИНОВАЯ РЕАКЦИЯ

Белки, полипептиды, а также свободные α -аминокислоты дают синее или фиолетовое окрашивание с нингидрином (трикетогидринденгидратом). Реакция характерна для аминогрупп в α -положении и обусловлена наличием α -аминокислот в молекуле белка.

При нагревании белка с водным раствором нингидрина аминокислоты окисляются и распадаются, образуя двуокись углерода, аммиак и соответствующий альдегид:



Восстановленный нингидрин конденсируется с аммиаком и окисленной молекулой нингидрина, образуя краситель типа мурексида фиолетово-синего цвета:

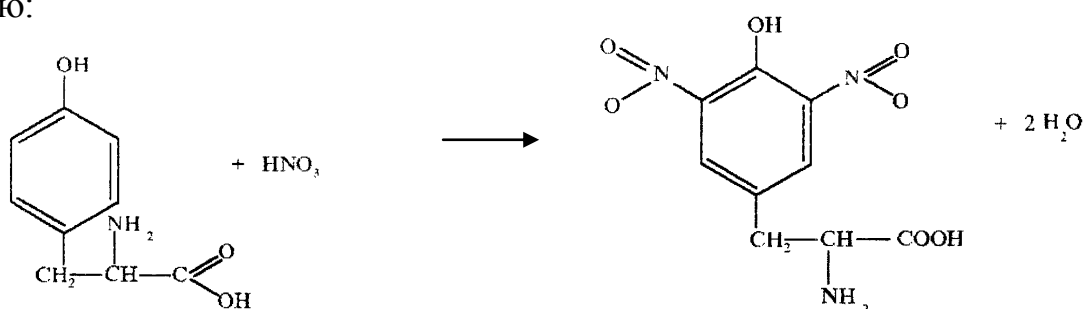


Ход работы. В одну пробирку вносят 5 капель 1% раствора яичного белка, в другую- 5 капель 1% раствора желатины. В каждую пробирку добавляют по 3 капли 0,5 % раствора нингидрина и нагревают до кипения. Через две-три минуты в обеих пробирках появляется розовое, красное, а затем сине-фиолетовое окрашивание.

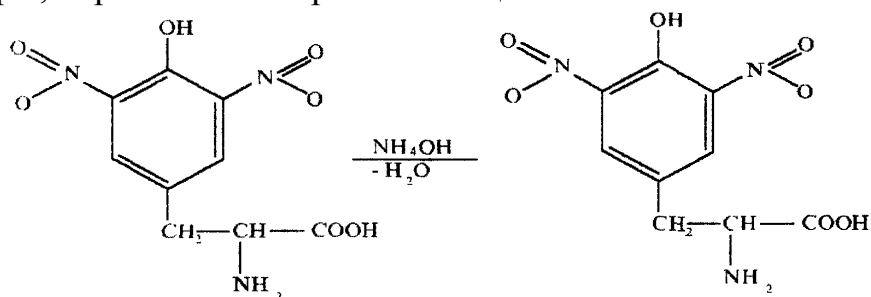
В. КСАНТОПРОТЕИНОВАЯ РЕАКЦИЯ

При добавлении к раствору белка концентрированной азотной кислоты белок сначала выпадает в осадок, а затем при нагревании растворяется и жидкость окрашивается в желтый цвет. Эта реакция называется ксантопротеиновой; она указывает на присутствие в белке ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана) и основана на образовании нитропроизводных этих аминокислот.

Реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот, которые при обработке концентрированной азотной кислотой подвергаются нитрованию:



Нитропроизводные аминокислот в щелочной среде образуют соли хиноидной структуры, окрашенные в оранжевый цвет:



Аналогично протекает реакция нитрования триптофана и фенилаланина (последний нитруется труднее). Ксантопротеиновую реакцию дают почти все белки; исключение составляют клупеин и сальмин (из группы протаминов) и желатина, в молекуле которых почти полностью отсутствуют ароматические аминокислоты.

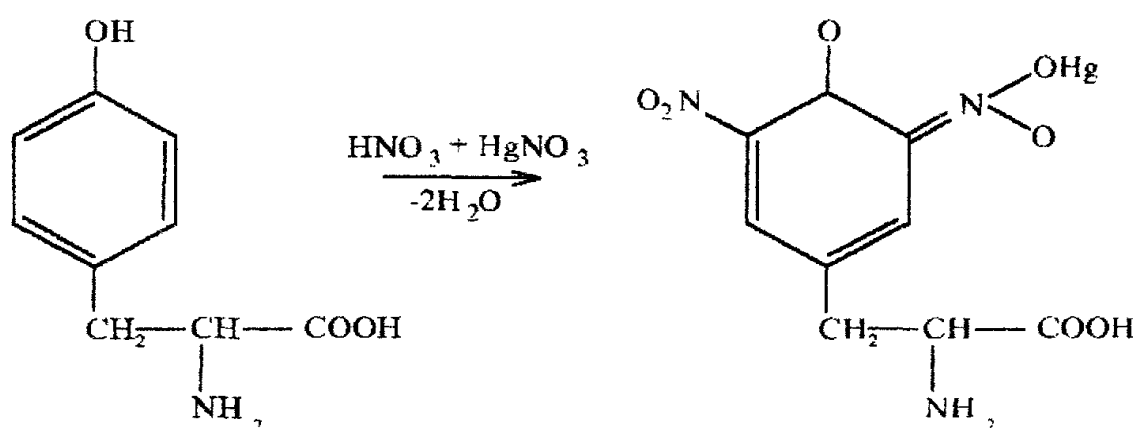
Ход работы. В одну пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка, во вторую – 5 капель 1% раствора желатины. В обе пробирки добавляют по 3 капли концентрированной азотной кислоты и (осторожно) нагревают. В пробирке с яичным белком жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет, а в пробирке с желатиной появляется едва заметное бледно-желтое окрашивание (обусловленное незначительной примесью других белков), т.к. желатина почти не содержит ароматических кислот. Пробирки охлаждают, после этого в них осторожно добавляют по 10 капель концентрированного раствора аммиака или

30% раствора едкого натра. В пробирке с яичным белком желтая окраска переходит в оранжевую.

Г. РЕАКЦИЯ МИЛЛОНА

При добавлении к раствору белка реактива Миллона (раствор ртути в азотной кислоте, содержащей азотистую кислоту) белок выпадает в осадок, который при нагревании приобретает красно-коричневый цвет.

Реакция обусловлена наличием в белке аминокислоты тирозина, имеющей фенольное ядро, которое при взаимодействии с реактивом Миллона образует окрашенную соль своего нитропроизводного:



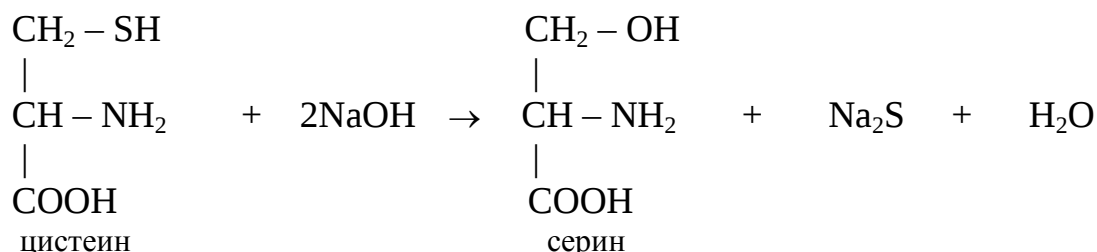
рых не содержат тирозина (желатина, клупеин).

Свободный тирозин реагирует с реактивом Миллона аналогично, но при этом не образуется осадка, а раствор приобретает красный цвет.

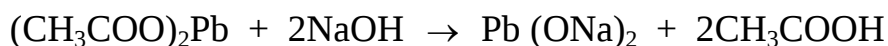
Ход работы. В одну пробирку вносят 10 капель 1% раствора яичного белка, в другую – 10 капель 1% раствора желатины. В каждую пробирку прибавляют по 1-2 капли реактива Миллона и осторожно нагревают. В пробирке с яичным белком осадок белка приобретает красно-коричневый цвет, в пробирке с желатиной жидкость остается бесцветной, поскольку этот белок почти не содержит ароматических аминокислот, или слегка желтеет, если желатина содержит примеси других белков.

Д. РЕАКЦИЯ ФОЛЯ

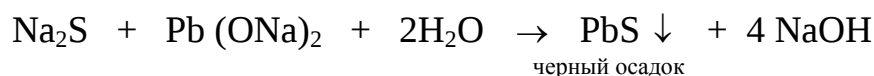
При добавлении к раствору белка крепкой едкой щелочи, уксуснокислого свинца и последующем кипячении раствор начинает темнеть. Реакция обусловлена присутствием в балке серусодержащих аминокислот; цистеина, цистеина и метионина. Эти аминокислоты при нагревании в присутствии крепкой щелочи разрушаются, образуя сернистый натрий:



Уксуснокислый свинец реагирует со щелочью с образованием плюмбита натрия:



Сернистый натрий при взаимодействии с плюмбитом образует черный осадок сернистого свинца:



Ход работы. В одну пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка, во вторую - 5 капель 1% раствора желатины. В каждую пробирку добавляют по 5 капель 30% раствора едкого натра и по 1 капле 5% раствора уксуснокислого свинца. При интенсивном кипячении жидкость в пробирке с яичным белком темнеет, образуя черный осадок сернистого свинца. В пробирке с желатиной черного осадка не образуется, так как желатина почти не содержит серусодержащих аминокислот.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ:

Выберите правильные ответы:

1. Нейтральной аминокислотой является: а) аргинин; б) лизин; в) аланин; г) аспаргиновая кислота; д) гистидин.
2. Оптической активностью не обладает: а) лейцин; б) аланин; в) глицин; г) цистеин; д) аргинин.
3. Серусодержащей аминокислотой является: а) треонин; б) гомоцистеин; в) триптофан; г) глутатион; д) тирозин.
4. В составе бвлков постоянно встречается: а) оксипролин; б) валин; в) гамма-аминомасляная кислота; г) бетта-аланин; д) норлейцин.
5. Дисульфидную связь содержит аминокислота: а) лизин; б) метионин; в) гомоцистеин; г) цистеин; д) цистин.
6. Аминокислотой не является: а) лейцин; б) валин; в) холин; г) лизин; д) аланин.
7. В процессе гидролиза белка: а) уменьшается количество свободных COOH -групп; б) увеличивается количество свободных аминогрупп; в) резко падает pH

раствора; г) образуются пептидные связи; д) выделяется газообразный азот.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКА

Белки – высокомолекулярные соединения (их молекулярный вес колеблется от нескольких тысяч до десятков миллионов), большинство их обладает гидрофильными свойствами, т.е. они имеют большое сродство к воде.

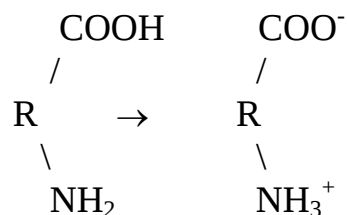
По современным представлениям растворы белков являются истинными растворами, Поскольку размер белковых молекул соответствует размерам коллоидных растворов.

В отраженном свете они опалесцируют, дают эффект Тиндаля (при боковом освещении виден светящийся конус),

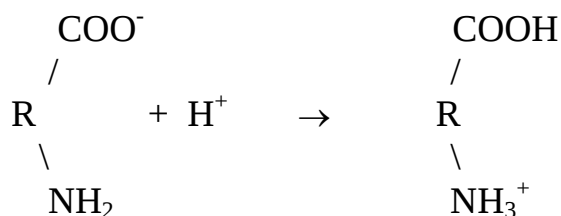
Частицы белка не способны проникать через полупроницаемые мембраны.

Коллоидные растворы белка достаточно устойчивы. Такая стабильность белковых растворов обусловлена двумя основными факторами: во-первых, белковая частица несет электрический заряд, и, во-вторых, вокруг белковой молекулы образуется плотная водная оболочка, состоящая из нескольких слоев, что препятствует коагуляции (объединению) белковых молекул и выпадению их в осадок. Присутствие водной оболочки объясняется наличием на поверхности белковой молекулы большого количества гидрофильных полярных групп, связывающих частицы воды.

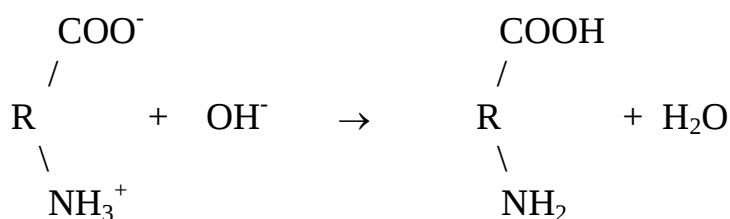
Наличие электрического заряда обусловлено способностью белковой молекулы диссоциировать в водных растворах и давать ионы. Белки, как и их структурные элементы – аминокислоты, благодаря одновременному присутствию COOH-групп (кислотных) и NH₂ – групп (основных) являются амфолитами (амфотерными электролитами):



В кислой среде они проявляют основные свойства и несут положительный заряд (катионы):

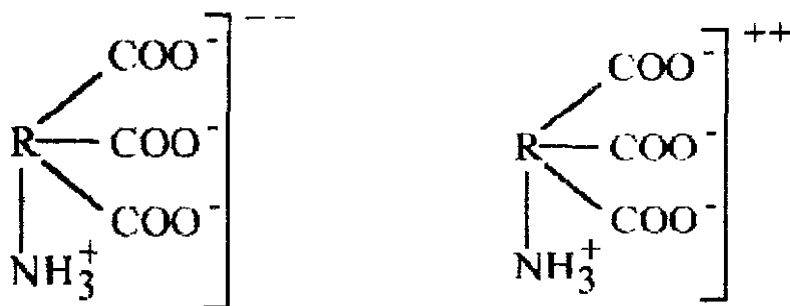


В щелочной среде они проявляют кислотные свойства, несут отрицательный заряд (анионы):



Поскольку белки имеют различный аминокислотный состав, то в зависимости от преобладания в молекуле белка дикарбоновых аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой) или диаминомонокарбоновых аминокислот (лизина, аргинина) белки в водных растворах обладают, соответственно, свойствами слабых кислот или слабых оснований. Большинство природных белков имеют кислый характер (альбумины, глобулины) и в водном растворе несут отрицательный заряд; основные белки (протамины, гистоны) в водном растворе несут положительный заряд.

Схематически это можно представить следующим образом:



При добавлении кислоты к водному раствору белка его кислотная диссоциация понижается, согласно закону действия масс, основная же диссоциация соответственно повышается, наступает момент, когда кислотная диссоциация делается равной основной; общий заряд белковой молекулы при этом становится наименьшим, так как в этом случае белковая частица несет на себе равное количество положительных и отрицательных зарядов, уравнивающих друг друга. При дальнейшем добавлении кислоты кислотная диссоциация белка еще больше появляется и белок приобретает положительный заряд (катион); таким образом, происходит перезарядка коллоидных частиц. Наоборот, при действии щелочей понижается основная и усиливается кислотная диссоциация, и белок заряжается отрицательно. Такое значение рН, при котором частицы белка несут равное количество положительных и отрицательных зарядов (белок находится в изоэлектрическом состоянии), называется изоэлектрической точкой. В изоэлектрической точке белок легко выпадает в осадок. Это можно объяснить тем, что в изоэлектрическом состоянии белок лишается одного из стабилизирующих факторов и вследствие снятия заряда прекращается взаимоотталкивание частиц; под влиянием межмолекулярных сил притяжения такие частицы образу-

ют более крупные агрегаты и выпадают в осадок.

Осаждение белка из раствора может быть достигнуто многими разнообразными приемами. Реакциями осаждения используются для обнаружения белка в растворе, для разделения белковых фракций, а также для получения безбелковых фильтратов.

Лабораторная работа № 2

Тема: Реакции осаждения белков

Цель работы: ознакомиться с физико-химическими свойствами белков и обратить внимание на реакции осаждения белков.

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

Для осаждения белка нужно лишить его факторов, удерживающих его в растворе, используя различные агенты, снижающие заряд или разрушающие гидратную оболочку белковой частицы.

При изучении реакций осаждения белка следует познакомиться с понятием денатурации. Белки под влиянием изменения рН, повышения температуры, излучения различных длин волн, радиоактивного излучения, а также ряда химических веществ (органические растворители, тяжелые металлы и др.) препятствуют глубоким изменениям в транспортной нативной структуре молекулы, в результате которых способность белка растворяться в обычных для них растворителях (вода, солевые растворы и др.). Белки при этом теряют свои гидрофильные свойства и приобретают гидрофобные. Пептидные связи в белках при денатурации не гидролизуются.

Фактически процесс денатурации белка сводится к разрушению нативной вторичной и третичной структуры белка, при этом белковая молекула, как, правило, теряет свои биологические свойства.

Реакции осаждения белков весьма разнообразны, однако их можно разделить на две группы:

1. практически необратимые реакции осаждения, при которых белки претерпевают глубокие изменения и не могут быть вновь растворены в первоначальном растворителе. В этом случае наступает денатурация белка. К необратимым реакциям относятся осаждение белка солями тяжелых металлов, алкалоидными реактивами, минеральными и органическими кислотами и осаждение при нагревании;
2. обратимые реакции осаждения, при которых осаждаемые белки не подвергаются глубоким изменениям и поэтому получаемые осадки белков могут быть растворены в первоначальном растворителе. Молекула белка при этом сохраняет свои первоначальные нативные, включая биологические, свойства и не подвергается заметной денатурации.

К обратным реакциям осаждения следует отнести осаждение белков органическими растворителями (спиртом, ацетоном) и высаливание белков - осаждение под влиянием концентрированных растворов нейтральных солей: NH_4Cl , NaCl , $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ и др.

А. Осаждение белка при нагревании

Почти все белки денатурируют при нагревании ($50-55^\circ\text{C}$ и выше). Механизм тепловой денатурации связан с перестройкой структуры белковой молекулы, в результате которой белок теряет свои нативные свойства, уменьшается его растворимость (уменьшение гидрофильных свойств ведет к нарушению гидратной оболочки).

Ход работы. В 5 пронумерованных пробирок наливают по 10 капель 1% раствора яичного белка.

Содержимое первой пробирки нагревают на газовой горелке. Жидкость мутнеет, но т.к. частицы денатурированного белка несут заряд, они удерживаются во взвешенном состоянии (яичный альбумин является кислым белком и в нейтральной среде заряжается отрицательно).

В пробирку 2 добавляют 1 каплю 1% раствора уксусной кислоты и нагревают. Выпадает осадок белка вследствие того, что белок теряет заряд и приближается к изоэлектрическому состоянию.

В пробирку 3 добавляют 1 каплю 10% раствора уксусной кислоты и содержимое нагревают. Осадка белка не образуется даже при кипячении, т.к. в сильно кислой среде частицы белка перезаряжаются, приобретая положительный заряд.

В пробирку 4 добавляют 1 каплю 10% раствора уксусной кислоты и 1 каплю насыщенного раствора хлорида натрия. Образуется осадок белка вследствие адсорбции ионов хлорида натрия (образование двойного электрического слоя) и нейтрализации положительного заряда на частицах белка.

В пробирку 5 добавляют 1 каплю 10% раствора едкого натра и нагревают. Осадка белка не образуется даже при кипячении, т.к. в щелочной среде отрицательный заряд на частице белка усиливается. Результаты работы вносят в таблицу.

Таблица 1. Осаждение белка при нагревании

Нейтральная среда	Слабокислая среда 1% CH_3COOH	Кислая среда 10% CH_3COOH	Кислая среда + 10% CH_3COOH NaCl	Щелочная среда 10% NaOH

Выводы:

Б. Осаждение белка органическими растворителями.

Белки не растворимы во многих органических растворителях (спирт, аце-

тон и др.). Однако их осаждение происходит только на нейтральных и слабых кислых растворах и особенно полно в присутствии электролитов, ионы соли связываются коллоидными частицами белка, разрушают водную оболочку и тем самым понижают их устойчивость в растворе.

Кратковременное воздействие органических растворителей сохраняет белок в естественном состоянии; при продолжительном взаимодействии со спиртом белок подвергается денатурации.

Ход работы. В пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка и 20 капель спирта или ацетона: раствор мутнеет. При добавлении нескольких капель насыщенного раствора хлорида натрия выпадает осадок белка.

В. Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами.

Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами (кроме H_3PO_4) объясняется как явлениями дегидротации белковых частиц и нейтрализацией их зарядов, так и рядом других причин (например, денатурацией, образованием соли и др.). В избытке серной или соляной кислот, а также при длительном их воздействии выпавший осадок денатурированного белка растворяется, по-видимому, за счет перезарядки белка и частичного гидролиза. В избытке азотной кислоты этого растворения не происходит (точный механизм этого явления не установлен, возможно, что ион NO_3^- мешает перезарядке белковой молекулы). Реакция осаждения белка азотной кислотой используется при клинических исследованиях мочи на присутствие и количественное содержание в ней белка.

Ход работы. В три пробирки наливают по 15-20 капель концентрированной соляной, серной и азотной кислоты. Затем, наклонив пробирку под углом 45 градусов, осторожно по стенке пробирки (чтобы жидкость не смешивалась) наливают равный объем раствора белка. На границе двух слоев жидкости появляется осадок белка в виде тонкой пленки. Осторожно встряхивая пробирки, обнаруживают растворение белка (в случае осаждения соляной и серной кислотами). В пробирке с азотной кислотой осадок белка не растворяется.

Г. Осаждение белка солями тяжелых металлов.

При действии солей тяжелых металлов на растворы белка происходит денатурация белковых молекул. Осаждение денатурированного белка обусловлено адсорбцией тяжелого металла на поверхности белковой молекулы и образованием нерастворимых комплексов.

Свойства белков связывать тяжелые металлы используются в медицинской практике: белки применяют в качестве противоядия при отравлении солями ртути, свинца, меди и другими металлами. Белок ограничивает всасывание

тяжелого металла, образуя с ним нерастворимые комплексы.

Ход работы. В три пробирки вносят по 5 капель 1% раствора яичного белка и по 1 капле в первую пробирку 7% раствора сульфата меди, во вторую – 5% раствора уксуснокислого свинца, а в третью – 5% нитрата серебра. Во всех пробирках образуется осадок.

В первую пробирку добавляют еще 5-10 капель 7% раствора сульфата меди, при этом наблюдается растворение осадка. В третью пробирку вносят 5-10 капель 5% раствора нитрата серебра. Растворение осадка не происходит. Результаты работы заносят в таблицу.

Реакция осаждения белка.

Название групп осадителей	Употребляемые реактивы	Характер и цвет осадка	Чем обусловлена реакция?
Органические растворители			
Концентр. минеральные кислоты			
Соли тяжелых металлов			

Выводы:

Лабораторная работа №3

Тема: Растворимость белков

Цель работы: Продолжить ознакомление с физико-химическими свойствами белков и изучить растворимость белков.

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

Многие белки хорошо растворимы в воде, что обусловлено наличием на поверхности белковой молекулы свободных гидрофильных групп (-ОН, -NH₂-, COOH и др.). Различные белки растворяются по различному: белки опорных тканей (картин, проколаген, коллаген, аластин и др.) нерастворимы в воде.

Растворимость белка в воде зависит от характера белка, реакции среды и присутствия электролитов. В кислой среде лучше растворяются белки, обладающие кислыми свойствами (альбумины, глобулины, проламины, глютамины), щелочные белки (протамины и гистоны) лучше растворяются в щелочной среде.

Различия в растворимости отмечают как среди кисло-, так и среди щелочнореагирующих белков. Например, альбумины растворяются в дистиллированной воде, а глобулины растворяются в воде только в присутствии электролитов.

Ход работы. В одну пробирку вносят 2 капли не разведенного яичного белка, 20 капель воды, содержимое перемешивают. При этом яичный альбумин

растворяется, а яичный глобулин выпадает в виде небольшого осадка. В другую пробирку вносят 2 капли белка и 20 капель 25 раствора хлорида натрия. В слабом солевом растворе растворяются альбумин и глобулины.

В другие пробирки помещают небольшое количество кератина (волосы). В одну пробирку вносят 20 капель воды, а в другую 20 капель 5% раствора хлорида натрия кератин не растворяется ни в воде, ни в солевом растворе.

Результаты работы записывают в таблицу, где растворимость обозначают знаком плюс, а отсутствие растворимости – знаком минус.

Растворимость белка.

Название белка	H ₂ O	5% NaCl
Яичный альбумин		
Яичный глобулин		
Кератин		

Выводы:

Лабораторная работа № 4

Тема: Высаливание белков

Цель работы: В рамках физико-химическими свойств белков изучить процессы высаливания белков и возможность их разделения.

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

Высаливанием называется процесс выделения белков из водных растворов нейтральными растворами концентрированных солей щелочных и щелочноземельных металлов Na₂ SO₄, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄, NaCl и др. При добавлении достаточно больших концентраций этих солей к раствору белка происходит дегидратация белковых частиц и снятие заряда: при этом белки выпадают в осадок.

Высаливание белков является обратным процессом, и после удаления соли (путем диализа, при разбавлении водой или другими способами) белок вновь приобретает природные свойства. Поэтому высаливанием пользуются в клинической практике при разделении белков сыворотки крови, а также научно-исследовательской работе при изолировании, очистке белков (ферменты, гормоны и др.) из органов и тканей для получения некоторых белковых препаратов (лечебные сыворотки, кристаллические белки и др.).

Работа по высаливанию проводится с яичным белком и белками мышечной ткани.

А. Разделение альбуминов и глобулинов яичного белка.

Ход работы. В пробирку наливают 20 капель не разведенного яичного белка, добавляют равный объем насыщенного раствора сульфата аммония, содержимое перемешивают. Получается полунасыщенный раствор сульфата аммония, выпадает осадок яичного глобулина. Через 5 минут осадок отфильтровывают. В фильтре остается другой белок – яичный альбумин.

Для высаливания альбумина к фильтрату добавляют измельченный порошок сульфата аммония до полного насыщения, т.е. до тех пор, пока не прекратится растворение соли. Выпавший осадок альбумина отфильтровывают и с фильтратом проделывают биуретовую реакцию (смотри работу №1). Отрицательная реакция указывает на отсутствие белка. Результаты работы вносят в таблицу.

Осаждение белка высаливанием

Название белка	Используемая соль	Степень насыщения	Образование осадка
Глобулин			
Альбумин			

Выводы:

Лабораторная работа № 5

Тема: Определение изоэлектрической точки белков

Цель работы: Определить важную характеристику белковых тел с целью установления их принадлежности к определенному классу в рамках общей классификации.

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

Изоэлектрической точкой белка называется определенная величина рН среды, при которой белок находится в виде нейтральных молекул (в изоэлектрическом состоянии), несущих равные количества положительных и отрицательных зарядов. При других концентрациях ионов водорода в растворе имеются преимущественно положительные или отрицательные ионы белка. Растворы белков в изоэлектрической точке наименее устойчивы и легко выпадают в осадок.

Определение изоэлектрической точки белка может быть сведено к определению рН раствора, при котором наблюдается наиболее быстрое и полное выпадение в осадок. Для получения растворов с различной величиной водородного показателя пользуются буферными растворами.

Производят определение изоэлектрической точки казеина. В отличие от других белков казеин осаждается в изоэлектрической точке без добавления во-

доотнимающих средств.

Ход работы. Для определения изоэлектрической точки казеина в 7 сухих пробирок наливают реактивы в количествах, указанных в таблице.

Определение изоэлектрической точки казеина

Количество 0,2М CH ₃ COOH, мл	Количе- ство H ₂ O, мл	Количество 0,4% раствора казеина в 0,2М CH ₃ COOH, мл	pH смеси	Степень помутне- ния
1,60	0,40	0,20	3,8	
0,80	1,20	0,20	4,1	
0,40	1,60	0,20	4,4	
0,20	1,80	0,20	4,7	
0,10	1,90	0,20	5,0	
0,08	1,94	0,20	5,3	
0,05	1,97	0,20	5,6	

Примечание: в графе «Степень помутнения» отсутствие осадка обозначается знаком минус (-), наличие его - знаком плюс (+), значительное помутнение - несколькими плюсами.

При смешивании растворов в каждой пробирке устанавливается определенная концентрация ионов водорода (pH). Содержимое пробирок хорошо перемешивают. Через 5-10 минут во всех пробирках появляется осадок (помутнение). Наибольшее количество осадка наблюдается в той пробирке, pH которой соответствует изоэлектрической точке данного белка.

Лабораторная работа № 6

Тема: Выделение казеина из молока

Цель работы: освоить методику выделения белковых тел из различных объектов (в данном случае молока) с последующей идентификацией типа выделенного белка.

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

В молоке казеин находится в виде растворимой кальциевой соли, т.е. в виде анионов. Свободный же казеиноген в форме электронейтральных молекул отличается весьма малой устойчивостью в воде. Поэтому при подкислении молока до pH 4,7 (изоэлектрическая точка казеиногена) казеиноген выпадает в осадок, т.е. молоко свертывается.

Ход работы. К 2 мл молока добавляют 2 мл дистиллированной воды и 2 капли 10% уксусной кислоты. Образуется осадок казеина, который отфильтровывают. Фильтр отбрасывают, а осадок казеина осторожно снимают с фильтра стеклянной палочкой и помещают в чистые пробирки.

Для доказательства белковой природы казеина проделывают цветные реакции на белки: биуретовую, Миллона и Фоля (смотри работу №1).

ФЕРМЕНТЫ

Ферментами называются белковые вещества, катализирующие химические реакции обмена веществ в живых организмах. Каталитическое действие фермента включает следующие остальные стадии: присоединение молекулы субстрата к ферменту, преобразование первичного промежуточного соединения в один или несколько последовательных активированных комплексов и отделение конечных продуктов реакции от фермента. По своей природе ферменты являются простыми или сложными белками. В последнем случае они состоят из белковой части, называемой апоферментом и низкомолекулярного компонента, который называют простетической группой или коферментом. Ферментативное действие оказывает только фермент в целом, ни кофермент, ни белковая часть в отдельности не активны. Многие коферменты являются производными витаминов и входят в так называемый активный центр фермента, который определяет каталитическую активность фермента. Как белковые вещества. Ферменты термолabile и теряют активность при тех температурах, при которых происходит денатурация белка, т.е. обычно при температуре выше 50 градусов Цельсия. Для каждого фермента существует оптимальная область значений pH, в которой он наиболее активен. Важным свойством ферментов является также специфичность действия, т.е. способность катализировать строго определенные реакции. Действие ферментов может усиливаться веществами, которые называются активаторами (соли, ионы некоторых металлов и др.), противоположное, тормозящее влияние оказывают на ферменты ингибиторы. Все до сих пор известные ферменты (около 1800) делятся на шесть главных классов, названия которых отражают тип катализируемой реакции:

1. Оксидоредуктазы – катализируют окислительно-восстановительные реакции;
2. Трансферазы – осуществляют межмолекулярный перенос различных химических групп.
3. Гидролазы – расщепляют внутримолекулярные связи гидролитическим путем.
4. Лиазы – катализируют реакции негидролитического распада веществ или присоединения групп по двойным связям и отщепления групп с образованием двойных связей.
5. Изомеразы – участвуют в реакциях изомеризации.
6. Лигаза (синтетаза) – ускоряют реакции соединения двух молекул, сопряженные с расщеплением макроэнергетической связи в молекуле АТФ или ана-

логичного нуклеозидтрифосфата.

Внутри каждого класса существует деление на подклассы и подподклассы, которые уточняют природу ферментной реакции. Наряду с современной номенклатурой сохраняются рабочие названия ферментов, давно вошедшие в употребление.

Лабораторная работа № 7

Тема: Действие амилазы на крахмал

Цель работы: ознакомиться со структурой сложных белков, освоить способы выделения их из биологических объектов с последующей идентификацией

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

Фермент осуществляет гидролиз крахмала (гликогена) через промежуточные продукты распада (декстрины) до мальтозы. Последняя, под влиянием фермента мальтозы, расщепляется на две молекулы глюкозы. Источником амилазы может быть слюна, содержащая α -амилазу (α -1,4-глюкан-4-глюканогидролазу). Кроме того, в слюне содержится мальтоза.

Не расщепленный крахмал с йодом дает синее окрашивание, а декстрины в зависимости от величины своих частиц, дают с йодом фиолетовую, красно-бурую, оранжевую окраску или вообще не окрашиваются. Поэтому, если к раствору крахмала прибавить слюну и через определенные промежутки времени добавлять в пробы 1% раствор йода, то жидкость сначала приобретает синий цвет, а затем - фиолетовый, красный, оранжевый, желтый. Это объясняется тем, что амилаза слюны расщепляет крахмал, образуя ряд промежуточных продуктов. Амилодекстрины и эритродекстрины дают с йодом гамму цветов - от фиолетового до оранжевого. Мальтодекстрины и мальтоза окрашивания с йодом не дают. Конечные продукты гидролиза крахмала - мальтоза и глюкоза – могут быть обнаружены реакцией Троммера.

Ход работы. В 9 пробирок наливают по 2 мл. дистиллированной воды и по одной капле 1% раствора йода. Отдельно наливают в стаканчик 5 мл. 0,5% раствора крахмала, прибавляют 5 капель слюны, энергично перемешивают и замечают по секундомеру время; немедленно отбирают 2 капли этой смеси из стаканчика и вносят в пробирку 1. Если жидкость в пробирке окрашивается в синий цвет, то через 20 с. капли смеси из стаканчика вносят в пробирку 2. Если жидкость в пробирке 2 окрашивается в синий цвет, то в следующие пробирки нужно вносить по 2 капле смеси через более длительные промежутки времени, например, через каждые 30с., но если жидкость в пробирке 2 станет фиолетовой или красной, то смесь нужно вносить в остальные пробирки через каждые 20 с.

Когда в одной из пробирок желтый цвет раствора йода не изменится, гид-

ролиз крахмала считают законченным. Результаты опыта можно записать в виде таблицы.

Гидролиз крахмала амилазой слюны

№ пробирок	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Окраска жидкости									
Название продукта реакции									

Выводы

Лабораторная работа № 8

Тема: Определение оптимальной температуры действия ферментов

Цель работы: ознакомиться с новым классом биовеществ и наблюдать их действие на субстраты

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

При увеличении температуры скорость ферментативных реакций возрастает, так же как и скорость большинства химических реакций: с повышением температуры на 10°C скорость реакции увеличивается в 2-3 раза. В отличие от неферментативных реакций наблюдается в узком интервале температур. Температура, при которой наблюдается максимальная скорость реакции, называется оптимальной и обозначается $t_{\text{опт}}$. Чаще всего $t_{\text{опт}}$ равна $37-40^{\circ}\text{C}$. после достижения $40-50^{\circ}\text{C}$ скорость большинства ферментативных процессов начинает падать. Это объясняется тепловой денатурацией белковой молекулы фермента и потерей им каталитической активности.

Ход работы. Берут 2 ряда пробирок по 4 пробирки в каждом ряду и во все пробирки первого ряда (1-4) вносят по 10 капель 0,5% раствора крахмала, а во все пробирки второго ряда (5-8) вносят по 10 капель разведенной в 10 раз слюны. Пробирки 1 и 5 ставят на 10 минут на лед, пробирки 2 и 6 оставляют при комнатной температуре, пробирки 3 и 7 ставят в термостат при 37°C , а пробирки 4 и 8 - в кипящую водяную баню. Через 10 минут сливают вместе содержимое пробирок 1 и 5, 2 и 6, 3 и 7, 4 и 8 тщательно перемешивают и оставляют стоять 10 минут. Затем из каждой пробирки отбирают по 3 капли жидкости и на предметном стекле проводят реакцию с каплей 1% раствора йода. Если окраска получается синей, оставляют раствор еще на 10 минут и после этого повторяют реакцию с йодом на стекле и записывают результаты в виде таблицы.

Определение оптимальной температуры действия амилазы слюны.

№ пробирок	Температура, $^{\circ}\text{C}$	Окраска с йодом
1 и 5	0	

2 и 6	20	
3 и 7	37	
4 и 8	100	

Выводы

Лабораторная работа № 9

Тема: Изучение химических свойств жиров

Цель работы: изучить некоторые свойства ферментов и, в частности, их отношение к повышенным температурам и влиянию на активность ферментов.

Формируемые компетенции: ОК-7, ПК-24, ПК-26.

А. Доказательство неопределенного характера жиров.

1.1. В одну пробирку поместите 2-3 капли подсолнечного масла, в другую - немного свиного или говяжьего жира, прилейте по 1 мл воды. Пробирку с твердым жиром слегка подогрейте, чтобы он расплавился, хорошо перемешайте. Прилейте в каждую пробирку по 0,5 мл бромной воды. В какой из пробирок происходит быстрое исчезновение желтой окраски?

1.2. Приготовьте в двух пробирках по 2 мл эмульсии жидкого и твердого жиров в карбонате натрия. Прилейте в каждую из пробирок по 1 мл 1%-ного раствора перманганата калия, перемешайте. В какой из пробирок наблюдается быстрое обесцвечивание раствора?

Объясните исчезновение окраски брома и перманганата калия. Ответ подтвердите уравнением реакции, взяв в качестве исходного соединения 1,2-диолеинил-3-пальмитилглицерин - один из компонентов растительных масел.

ЗАПОМНИТЕ! На реакции присоединения основано определение одной из важнейших аналитических характеристик жиров - йодного числа - т. е. числа граммов йода, присоединяющихся к 100 граммам жира. Чем выше йодное число, тем более ненасыщенным является жир.

Б. Омыление жиров в щелочной среде.

Поместите в колбу 3 мл подсолнечного масла, прилейте 10 мл 30% раствора гидроксида натрия. Слабо кипятите реакционную смесь 15-20 минут периодически помешивая ее стеклянной палочкой, и добавляя воду, чтобы сохранить первоначальный объем. Для проверки полноты гидролиза несколько капель реакционной смеси поместите в пробирку с 2-3 мл воды и слегка подог-

рейте. Если проба растворяется полностью, гидролиз можно считать законченным. Охладите реакционную смесь и прилейте к ней 20 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Растворимость натриевых солей карбоновых кислот (мыл) в хлориде натрия резко уменьшается, и мыло всплывает на поверхность. Отфильтруйте его. Оставьте фильтрат и полученное мыло для следующих опытов.

Приведите уравнение реакции гидролиза (щелочного) 1-олеиноил-2-линолеоил-3-стеароилглицерина, назовите продукты гидролиза.

ЗАПОМНИТЕ! На реакции щелочного гидролиза основано определение важной аналитической характеристики жиров - числа омыления, т.е. количество мг гидроксида калия, необходимого для полной нейтрализации кислот, образовавшихся при гидролизе 1 грамма жира. Высокое число омыления свидетельствует о том, что в состав жира входит большое количество низкомолекулярных кислот.

Рекомендуемая литература

1. Основная литература

1. Маршалкин, М. Ф. (Институт сервиса, туризма и дизайна (филиал) СКФУ в г. Пятигорске). Биохимия : учеб. пособие / М.Ф. Маршалкин ; Институт сервиса, туризма и дизайна(филиал)СКФУ в г. Пятигорске. - Пятигорск : ПФ СКФУ, 2016. - 323 с. - Библиогр.: 322 с.
2. Тихонов Г.П. Основы биохимии [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Тихонов Г.П., Юдина Т.А.— Электрон. текстовые данные.— М.: Московская государственная академия водного транспорта, 2014.— 179 с.
3. Рогов, И.А. Химия пищи: И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко- М.: КолосС, 2013.

2. Дополнительная литература

1. Биологическая химия: учебное пособие/ Ю. Б. Филлипович [и др.]; ред. Н. И. Ковалевская – М.: ИЦ "Академия", 2011.
2. Рогожин В. В. Биохимия молока и мяса: учебник СПб.: [Гиорд](#), 2012
3. Биологическая химия [Электронный ресурс]: учебник/ А.Д. Таганович [и др.].— Электрон.текстовые данные.— Минск: Вышэйшая школа, 2013.— 672 с.

3. Интернет ресурсы:

1. www.ldbncstu.
2. Foliant.ru
3. <http://biblioclub.ru>
4. window.edu.ru
5. www.ict.edu.ru